

ISTRUZIONI PER L'USO

Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit

Numero di prodotto:	IVD-2017 Reagenti per 180 estrazioni.
UDI-DI:	4260543364281
Versione:	V240503 IT 
Produttore:	Revvity chemagen Technologie GmbH Arnold-Sommerfeld-Ring 2 52499 Baesweiler, Germania www.revvity.com

CE

PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

1. INDICE DEI CONTENUTI

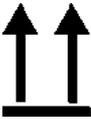
1. Indice dei contenuti.....	1
2. Spiegazione delle parole di segnalazione in questa IFU	3
3. Simboli utilizzati nella IFU e sulle etichette	3
4. Scopo previsto	5
5. Riassunto e principio	5
6. Segnalazione degli incidenti	6
7. Informazioni generali e di conservazione.....	7
8. Istruzioni per l'uso elettroniche	8
9. Avvertenze e precauzioni	8
10. Reagenti del kit e informazioni sulla sicurezza	10
10.1 Magnetic Beads	10
10.2 Lysis Buffer 1	10
10.3 Binding Buffer 2	11
10.4 Wash Buffer 3	12
10.5 Wash Buffer 4	13
10.6 Wash Buffer 5	14
10.7 Elution Buffer 6	14
10.8 Proteinase K	15
10.9 Poly(A) RNA	16
10.10 Poly(A) RNA Buffer	16
10.11 Ulteriori componenti del kit.....	17
11. File dei protocolli richiesti.....	18
12. Materiale necessario ma non fornito con il kit.....	18
12.1 Articoli da Revvity chemagen Technologie GmbH.....	18
12.2 Articoli aggiuntivi richiesti.....	18
12.3 Ulteriori articoli opzionali di Revvity chemagen Technologie GmbH	18
12.4 Altri articoli opzionali aggiuntivi	19
13. Raccolta e manipolazione dei campioni.....	20
14. Descrizione dettagliata del protocollo	21
14.1 Procedura del protocollo	21
14.2 Posizionamento	22
14.3 Fasi di lavorazione	22
14.4 Breve descrizione/ Guida rapida	25
15. Caratteristiche delle prestazioni.....	27

15.1	LoD utilizzando lo strumento chemagic Prepito per l'estrazione e i sistemi Roche lightcycler 480 II, Applied Biosystems™ 7500 FAST, Bio-rad cfx touch e analytik jena qtower ³ PCR	27
16.	Pulizia e manutenzione.....	28
17.	Applicazioni a valle	29
18.	Altre domande	30
19.	Limitazioni della procedura	30
20.	Garanzia	31

2. SPIEGAZIONE DELLE PAROLE DI SEGNALAZIONE IN QUESTA IFU

Parola segnale	Descrizione
PRUDENZA!	Pericolo potenziale che potrebbe causare danni di lieve o media entità.
NOTA:	Gli errori commessi dall'operatore possono causare l'impossibilità di garantire le prestazioni ottimali del kit.

3. SIMBOLI UTILIZZATI NELLA IFU E SULLE ETICHETTE

Simbolo	Simbolo Titolo	Simbolo	Simbolo Titolo
	Marchio CE Conformità europea		Limite di temperatura
	Dispositivo medico <i>in vitro</i>		Contiene un numero sufficiente di <n> test
	Consultare le istruzioni per l'uso o le istruzioni per l'uso elettroniche		Quantità
	Produttore		Non riutilizzare
	Codice lotto		Traduzione
	Numero di catalogo		Data di scadenza
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata e consultare le IFU		Da qui in su

Simbolo	Simbolo Titolo	Simbolo	Simbolo Titolo
	GHS02		Merci pericolose: Classe 3 Liquido infiammabile
	GHS07		Merci pericolose: Classe 8 Sostanze corrosive
	GHS08	-	-

chemagic™ è un marchio di Revvity chemagen Technologie GmbH.

4. SCOPIO PREVISTO

Il kit Prepito Viral DNA/RNA (IVD-2017) è un kit per l'isolamento e la purificazione automatizzati di DNA e RNA da plasma umano, saliva e tamponi nasali o orofaringei per scopi diagnostici *in vitro*.

Il prodotto viene utilizzato sullo strumento chemagic™ Prepito/-D ed è destinato al personale di laboratorio addestrato per lo strumento chemagic Prepito/-D in combinazione con i kit di purificazione degli acidi nucleici chemagic. Il kit è progettato per essere utilizzato con le applicazioni downstream IVD che impiegano l'amplificazione enzimatica e la rilevazione di DNA e RNA (ad es. PCR, RT-PCR, NGS).

Per ulteriori informazioni, consultare le sezioni "REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI sulla sicurezza" e "Avvertenze E PRECAUZIONI" in questo documento.

5. RIASSUNTO E PRINCIPIO

Il Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit si basa su una piattaforma tecnologica a microsfere magnetiche di proprietà di Revvity chemagen Technologie GmbH. Le cellule o altre fonti di DNA e RNA presenti nel plasma, nel siero e nei tamponi nasali o orofaringei vengono lisate durante il processo di estrazione. Gli acidi nucleici rilasciati si legano a piccole particelle magnetizzabili che vengono poi separate magneticamente dal materiale del campione. Nelle fasi successive vengono rimossi i contaminanti e gli acidi nucleici purificati vengono trasferiti in un tampone di eluizione. L'elaborazione automatizzata dei campioni viene eseguita utilizzando lo strumento chemagic Prepito o chemagic Prepito-D.

Per ridurre al minimo le anomalie nei risultati diagnostici, il prodotto è concepito per l'uso con un controllo appropriati durante l'intero processo di preparazione, amplificazione e rilevazione dei campioni, in base al tipo di test eseguito a valle.

6. SEGNALAZIONE DEGLI INCIDENTI

Per un utente/ terzo nell'Unione Europea e nei paesi con un regime normativo identico (IVDR (EU) 2017/746); se, durante l'uso di questo dispositivo o in conseguenza del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo alla propria autorità nazionale e al produttore Revvity chemagen Technologie GmbH, +49 (0) 2401805500 o support.chemagen@revvity.com o ai suoi rappresentanti legali.

L'autorità competente in Germania è l'Istituto federale per i farmaci e i dispositivi medici (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM). Le informazioni di contatto aggiornate sono disponibili sul sito web del BfArM: <https://www.bfarm.de>.

7. INFORMAZIONI GENERALI E DI CONSERVAZIONE

Il kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 180 estrazioni.

La data di scadenza del kit non aperto è riportata sull'etichetta esterna. Non utilizzare alcun componente oltre la data di scadenza. Conservare a una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

Una volta aperti, i componenti del kit hanno una stabilità limitata. La stabilità dopo l'apertura è indicata per ciascun componente separatamente nell'elenco dei reagenti (sezione "REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA").

Se il Lysis Buffer 1 contiene precipitati (formatisi durante il trasferimento o la conservazione), la soluzione deve essere riscaldata a 50-60 °C e mescolata accuratamente fino a quando la soluzione risulta limpida. La limpidezza del Lysis Buffer 1 deve essere sempre confermata visivamente prima dell'uso.

Le bottiglie possono scolorire durante la conservazione. Lo scolorimento delle bottiglie non ha alcun effetto sulla funzionalità del test.

Talvolta potrebbe permanere qualche traccia di Magnetic Beads nell'eluato. Sebbene normalmente queste particelle non interferiscano con la PCR o con la maggior parte delle applicazioni a valle, si consiglia di eseguire un passaggio aggiuntivo di separazione tramite centrifugazione o separatore magnetico (chemagic Stand 2x12) per separare qualsiasi traccia di particelle.

Il DNA/ RNA estratto dovrebbe essere utilizzato immediatamente dopo l'estrazione, eseguendo il test diagnostico *in vitro* desiderato.

In questo IFU si fa riferimento al manuale d'uso di Prepito (chemagic Prepito User Manual). Questo manuale sarà fornito con lo strumento chemagic Prepito/-D.

Il file di protocollo relativi al kit sarà fornito da Revvity chemagen Technologie GmbH (vedere la sezione "FILE DEI PROTOCOLLI RICHIESTI").

8. ISTRUZIONI PER L'USO ELETTRONICHE

Sul nostro sito web sono disponibili le istruzioni per l'uso elettroniche (eIFU) in varie lingue.

Per scaricare le istruzioni per l'uso elettroniche, visitare:

<https://chemagen.com/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/>.

Le eIFU sono fornite almeno in inglese (EN), francese (FR), spagnolo (ES) e italiano (IT) e su richiesta anche in altre lingue richieste.

In caso di domande relative al download o alle Istruzioni per l'uso elettroniche, contattateci: support.chemagen@revvity.com, info.chemagen@revvity.com o +49 (0) 2401805500.

9. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*.

Il prodotto è destinato al personale di laboratorio addestrato per lo strumento chemagic Prepito/-D in combinazione con i kit di purificazione degli acidi nucleici chemagic.

La comprensione approfondita di questo IFU e del Manuale d'uso di chemagic Prepito/-D è un prerequisito e un requisito necessario per l'uso corretto del kit Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit.

I reagenti forniti con questo kit sono destinati all'uso come un'unica unità. Non mescolare reagenti identici appartenenti a kit con numeri di lotto differenti.

Non utilizzare i reagenti del kit dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta del kit. Dopo l'apertura, i reagenti possono essere utilizzati per il periodo di tempo indicato nella list dei reagenti fornita in queste istruzione per l'uso.

Qualsiasi deviazione dal protocollo può influenzare i risultati.

Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.

Maneggiare tutti i campioni come se fossero potenzialmente infettivi. I campioni potenzialmente infettivi dovranno essere inattivati. Consultare la pubblicazione "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" del Department of Health and Human Services degli Stati Uniti o le normative locali o nazionali pertinenti.

Il Lysis Buffer 1 contiene guanidinio tiocianato ed è nocivo per ingestione, contatto con

la pelle o inalazione. Il Binding Buffer 2 e il Wash Buffer 3 contengono perclorato di sodio ed etanolo e sono liquidi e vapori infiammabili e nocivi se ingeriti. Il Wash Buffer 4 contiene etanolo ed è un liquido e un vapore infiammabile. La Proteinase K contiene Tritirachium album serina Proteinasi e provoca irritazione cutanea e grave irritazione oculare, può causare sintomi di allergia o asma o difficoltà respiratorie se inalata e irritazione respiratoria. Il Poly(A) RNA Buffer contiene guanidinio tiocianato ed è nocivo se ingerito o inalato. Vedere le precauzioni specifiche per tutti i componenti nella sezione "REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA".

Per evitare di ferirsi quando si utilizzano i componenti del kit, indossare sempre occhiali di sicurezza, guanti monouso e indumenti protettivi. Per informazioni dettagliate, consultare le schede di dati di sicurezza (safety data sheets, SDS) disponibili sulla nostra pagina web.

Seguire le normative locali per la manipolazione delle soluzioni etanoliche.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire in conformità alle normative locali.

10. REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA

Il Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit contiene i seguenti reagenti.

10.1 MAGNETIC BEADS

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Magnetic Beads	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Sospensione di particelle contenente nanoparticelle di ossido di ferro incapsulate in una matrice di alcol polivinilico. Le Magnetic Beads si legano al DNA/ RNA durante il processo di estrazione.

10.2 LYSIS BUFFER 1

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Lysis Buffer 1 	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del bottiglia. Conservare al riparo dalla luce. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione tampone acquosa pronta all'uso contenente guanidina tiocianato (50-70%). Il Lysis Buffer 1 viene impiegato per lisare le cellule o le altre fonti di DNA/ RNA presenti nel campione, in modo da ottenere il DNA/ RNA in soluzione.

PRUDENZA! Il Lysis Buffer 1 contiene guanidinio tiocianato.

Frasi di pericolo, precauzione e EUH

H302+H312	Nocivo in caso di ingestione o contatto con la pelle.
H314	Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
P101	In caso di consultazione di un medico, tenere a disposizione il contenitore o l'etichetta del prodotto.
P102	Tenere fuori dalla portata dei bambini.
P103	Leggere l'etichetta prima dell'uso.
P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P310	Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.
P321	Trattamento specifico (vedere su questa etichetta).
P405	Conservare sottochiave.
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.
EUH032	A contatto con acidi libera gas molto tossici.

10.3 BINDING BUFFER 2

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Binding Buffer 2   PERICOLO	1 bottiglia contenuto nella da chemagic 8-Pack	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del 8-Pack. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione pronta all'uso a base di Tris-HCl (pH 5.2-6.1) con perclorato di sodio (20-40 %) ed etanolo (40-60 %). Il Binding Buffer 2 crea condizioni favorevoli al legame

tra il DNA/ RNA e le Magnetic Beads.

PRUDENZA! Il Binding Buffer 2 contiene etanolo e perclorato di sodio.

Fraasi di pericolo, di precauzione e EUH

H225	Liquido e vapore facilmente infiammabili.
H302	Nocivo se ingerito.
P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
P240	Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.
P241	Utilizzare impianti [elettrici/ di ventilazione/ d'illuminazione] a prova di esplosione.
P280	Indossare guanti/ indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso/ proteggere l'udito.
P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.

10.4 WASH BUFFER 3

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 3  PERICOLO	1 bottiglia contenuto nella da chemagic 8-Pack	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del 8-Pack. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione pronta all'uso a base di Tris-HCl (pH 4.8-5.6) con perclorato di sodio (20-30 %) ed etanolo (20-40 %). Aiuta a rimuovere i contaminanti diversi dal DNA/ RNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 3 contiene etanolo e perclorato di sodio.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

H225	Liquido e vapori facilmente infiammabili.
P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
P240	Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.
P241	Utilizzare impianti [elettrici/ di ventilazione/ d'illuminazione] a prova di esplosione.
P280	Indossare guanti/ indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso/ proteggere l'udito.
P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.

10.5 WASH BUFFER 4

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 4  PERICOLO	1 bottiglia contenuto nella da chemagic 8-Pack	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del 8-Pack. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

La soluzione pronta all'uso contiene etanolo al 50-70%. Aiuta a rimuovere le ultime tracce di contaminanti diversi dal DNA/ RNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 4 contiene etanolo.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

H225	Liquido e vapori facilmente infiammabili.
P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
P240	Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

P241	Utilizzare impianti [elettrici/ di ventilazione/ d'illuminazione] a prova di esplosione.
P280	Indossare guanti/ indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso.
P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/internazionale.

10.6 WASH BUFFER 5

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 5	1 bottiglia contenuto nella da chemagic 8-Pack	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del 8-Pack. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione di acqua ultrafiltrata pronta all'uso. Aiuta a rimuovere i possibili residui di etanolo.

10.7 ELUTION BUFFER 6

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Elution Buffer 6	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione tamponata 10 mM, pronta all'uso, a base di Tris-HCl (pH 7.8-8.4).

10.8 PROTEINASE K

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Proteinase K   PERICOLO	1 fiala di vetro (liofilizzato)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della fiala. Dopo la ricostituzione, stabile per 28 giorni tra +2 e +8 °C.

La Proteinase K deve essere ricostituita con 2.5 mL di acqua purificata. La Proteinase K viene aggiunta per migliorare l'efficienza della lisi.

PRUDENZA! La Proteinase K contiene Proteinasi, serina di Tritirachium album e calcio acetato idrato.

Frasi di pericolo, precauzione e EUH

H315	Provoca irritazione cutanea.
H319	Provoca grave irritazione oculare.
H334	Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
H335	Può irritare le vie respiratorie.
P261	Evitare di respirare la polvere/ i fumi/ i gas/la nebbia/ i vapori/ gli aerosol.
P280	Indossare guanti/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso.
P284	[Quando la ventilazione del locale è insufficiente] indossare un apparecchio di protezione respiratoria.
P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P405	Conservare sottochiave.
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale /internazionale.

10.9 POLY(A) RNA

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Poly(A) RNA	2 tubi (liofilizzato)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta dei tubi. Dopo la ricostituzione, stabile per 30 giorni tra +2 e +8 °C.

Il Poly(A) RNA deve essere ricostituito con 440 µL di Poly(A) RNA Buffer. Il Poly(A) RNA funziona come un vettore di DNA/ RNA, migliorando l'efficienza del processo di estrazione.

10.10 POLY(A) RNA BUFFER

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
 Poly(A) RNA Buffer	2 tubi (volume vedi etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta dei tubi.

ATTENZIONE

Soluzione tampone acquosa, pronta all'uso, contenente tiocianato di guanidinio (20-40 %). Il Poly(A) RNA Buffer viene impiegato nella ricostituzione del Poly(A) RNA.

PRUDENZA! Il Poly(A) RNA Buffer contiene guanidinio tiocianato.

Fraasi di pericolo, precauzione e EUH

H302	Nocivo se ingerito.
P264	Lavare accuratamente dopo l'uso.
P270	Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso di questo prodotto.
P301+P312	IN CASO DI INGESTIONE: In presenza di malessere contattare un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.

Frase di pericolo, precauzione e EUH

P330	Sciacquare la bocca.
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.
EUH032	A contatto con acidi libera gas molto tossici.

10.11 ULTERIORI COMPONENTI DEL KIT

II

Prepito Viral DNA/RNA Kit 300 Kit contiene il seguente materiale plastico.

Componente	Quantità	Stoccaggio
chemagic Tips S	180	Tra +2 e +25 °C
Prepito Tubes M	360	Tra +2 e +25 °C
Prepito Tubes M Caps Stripes (8 tappi/ striscia)	23	Tra +2 e +25 °C
chemagic Deep Well Plates 2 mL	15	Tra +2 e +25 °C

11. FILE DEI PROTOCOLLI RICHIESTI

Il seguente file di protocollo sarà fornito da Revvity chemagen Technologies GmbH ed è già preinstallato sul chemagic Prepito/-D, disponibile sulla pagina web o sarà fornito dall'assistenza clienti.

Protocollo (file.che)	Tipo di protocollo/ scopo
031.che (nome del protocollo: Viral DNA/RNA dipping, VD 230515)	File di estrazione relativo al kit per lo strumento chemagic Prepito/-D

12. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO CON IL KIT

Il Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit richiede i seguenti elementi.

12.1 ARTICOLI DA REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Articolo	Prodotto n.
chemagic Prepito instrument	2022-0030
chemagic Prepito-D instrument	2022-0020

12.2 ARTICOLI AGGIUNTIVI RICHIESTI

Articolo	Scopo
Pipette e puntali per pipette con barriere per l'aerosol	Riempimento preliminare delle Magnetic Beads, Elution Buffer 6, Proteinase K e Poly(A) RNA
Acqua per biologia molecolare	Ricostituzione della Proteinase K
70% di etanolo	Pulizia dello strumento chemagic Prepito/-D

12.3 ULTERIORI ARTICOLI OPZIONALI DI REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Prodotto	Prodotto n.
chemagic Stand 2x12	CMG-300

12.4 ALTRI ARTICOLI OPZIONALI AGGIUNTIVI

Prodotto	Scopo
Soluzione salina isotonica, sterile	Liquefazione del materiale del tampone prima dell'uso
Provetta Sarstedt (n. cat. 72.693 o 72.694)	Provetta di reazione per l'inattivazione del materiale del campione

13. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Il Prepito DNA/RNA 300 Kit può essere usato con plasma umano fresco o congelato, stabilizzato con EDTA o citrato, raccolto con i comuni sistemi per prelievo ematico; con saliva stabilizzata (provette per prelievo Oragene™ e Spectrum™) e con i terreni di trasporto dei tamponi (ad es. eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) come aliquote dirette da 300 µL per ogni isolamento.

Dopo il prelievo e la centrifugazione, il plasma può essere conservato a 2-8 °C fino a 6 ore. Per la conservazione a lungo termine, si consiglia il congelamento a -20 °C oppure a -80 °C in aliquote. I campioni di plasma o di siero congelati non devono essere scongelati più di una volta. Il ripetuto congelamento-scongelo porta alla denaturazione e alla precipitazione delle proteine, con conseguente riduzione della resa degli acidi nucleici.

Il materiale del campione proveniente da tamponi essiccati deve essere trasferito in una soluzione salina isotonica. A questo scopo, aggiungere 350 µL di soluzione fisiologica isotonica e incubare per 5 minuti a 15-25 °C prima dell'uso. Per ogni isolamento, è necessario utilizzare 300 µL del campione in soluzione fisiologica isotonica incubato.

NOTA: Non utilizzare tamponi contenenti fosfati per la risospensione.

Non è stata determinata l'efficienza dell'estrazione di materiale campione diverso dai tipi di campioni elencati sopra.

Per una manipolazione sicura, i campioni per i test virali (ad es. estrazione dell'RNA virale della SARS-CoV-2) devono essere inattivati prima dell'uso. A tal fine, pipettare 4 µL di Poly(A) RNA, 10 µL di Proteinase K e 300 µL di Lysis Buffer 1 in una provetta Sarstedt da 2 mL. Quando più di un campione verrà processato per l'inattivazione, è possibile preparare una soluzione madre di questa soluzione. Moltiplicare semplicemente i volumi necessari per un campione per il numero totale di campioni da trattare e includere un volume aggiuntivo per l'equivalente di 3 campioni extra. Capovolgere diverse volte la provetta per miscelare il contenuto e, per ogni campione, trasferire 314 µL in una provetta Sarstedt da 2 mL. Continuare aggiungendo 300 µL di campione in ogni provetta, chiudere il coperchio e agitare in vortex a impulsi per 10 secondi. Incubare la provetta a 68 °C per 15 minuti (± 2 minuti) per l'inattivazione. Trasferire completamente il lisato inattivato nella Deep Well Plate 2 mL per il campione al passaggio 19 del protocollo di estrazione e proseguire con il passaggio 20.

14. DESCRIZIONE DETTAGLIATA DEL PROTOCOLLO

14.1 PROCEDURA DEL PROTOCOLLO

La procedura seguente descrive la preparazione e l'esecuzione del protocollo di estrazione utilizzando lo strumento chemagic Prepito/-D.

La durata del protocollo di estrazione automatica è di circa 39 minuti.

Il protocollo è adatto per elaborare fino a 12 campioni in parallelo (vedere "Fasi DI LAVORAZIONE").

Per istruzioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic Prepito/-D, consultare il Manuale d'uso di chemagic Prepito/-D.

NOTA: I campioni e i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (da +19 a +25 °C) prima dell'uso.

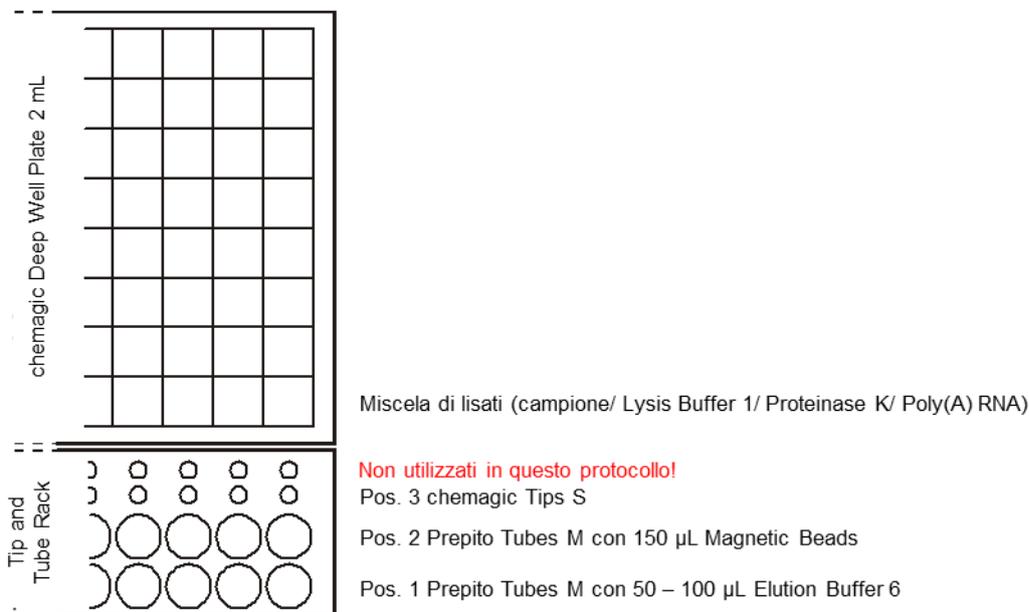
Collegare le provette in base alla loro numerazione alle rispettive controparti (vedi sotto) del chemagic 8-Pack. Rimuovere i coperchi dai singoli flaconi di tampone del chemagic 8-Pack e forare il setto con la punta posta all'estremità di ogni provetta. Posizionare il chemagic 8-Pack capovolto sul supporto per reagenti e utilizzare la funzione di adescamento manuale per riempire completamente il sistema di dispensazione.

Collegare i tubi come segue:

Pompa	Buffer	8-Pack n.
Pompa 1	Nessun bottiglia collegato	-
Pompa 2	Binding Buffer 2	2
Pompa 3	Wash Buffer 3	3
Pompa 4	Wash Buffer 4	4
Pompa 5	Wash Buffer 5	5
Pompa 6	Nessun bottiglia collegato	-

14.2 POSIZIONAMENTO

Vedere "FASI DI LAVORAZIONE" per informazioni dettagliate.



14.3 FASI DI LAVORAZIONE

1. Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.
2. Ricostituire i componenti della Proteinase K e del Poly(A) RNA:

Componente	Ricostituzione
Proteinase K	Aggiungere 2.5 mL di acqua per biologia molecolare nella fiala di Proteinase K, quindi miscelare delicatamente fino a completa dissoluzione.
Poli(A) RNA	Aggiungere 440 µL di Poly(A) RNA Buffer nella provetta Poly(A) RNA, quindi miscelare con cura fino a completa dissoluzione.

3. Se il Lysis Buffer 1 contiene un precipitato (formatosi durante il trasferimento o la conservazione), la soluzione dovrebbe essere riscaldata a 50-60 °C e miscelata con cura finché diventa limpida. La limpidezza del Lysis Buffer 1 dovrebbe essere confermata sempre visivamente prima dell'uso.
4. Accendere il chemagic Prepito/-D e attendere il termine dell'autotest.

5. Premere [Change protocol].
6. Premere [Serum/Plasma] nella finestra "Select Protocol Group".
7. Selezionare il protocollo del kit Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit premendo [Viral DNA/RNA300] e confermare premendo [OK].
8. Confermare la selezione del protocollo nella finestra "Select Protocol Group" premendo [OK].
9. Inserire il codice di accesso a 4 cifre [2364] per l'autorizzazione e confermare premendo [enter].
10. Premere [Start Process].
11. Leggere le informazioni sul protocollo nella schermata delle informazioni di apparizione.
12. Confermare premendo [continue].
13. Selezionare le posizioni del campione e confermare premendo [continue].
14. Inserire il codice a barre del kit con lo scanner di codici a barre e confermare premendo [OK].
15. Per la registrazione dei campioni e delle provette di eluizione, premere [Yes] e seguire le istruzioni sul pannello touch screen per inserire i codici a barre corrispondenti.
16. Preparare il Prepito Tip and Tube Rack con il materiale necessario e posizionare un chemagic Tip S nella posizione 3 per ogni campione in base alle posizioni del campione (vedi sezione "POSIZIONAMENTO").
17. Posizionare due Prepito Tube M, una in posizione 1 e una in posizione 2, e riempire il Elution Buffer 6 e le Magnetic Beads accuratamente risospese pipettando manualmente in base a ciascun pozzetto in uso (vedere anche la sezione "POSIZIONAMENTO") come segue:

Componente	Posizione nel Tip and Tube Rack	Volume/ tubo
Elution Buffer 6	1	50 - 100 µL
Magnetic Beads	2	150 µL

NOTA: La sospensione di Magnetic Beads deve essere mescolata vigorosamente prima di essere dispensata; in caso contrario, la sospensione non è omogenea e la resa di DNA/ RNA potrebbe essere bassa.

18. Aggiungere i seguenti reagenti nella posizione campione della piastra a pozzetti chemagic Deep Well Plate 2 mL definita come pozzetti campione (Pos. "Miscela di lisati", vedi sezione "POSIZIONAMENTO").
 - 4 μ L Poly(A) RNA e
 - 10 μ L Proteinase K.
19. Aggiungere 300 μ L di materiale campione e 300 μ L di Lysis Buffer 1 nel pozzetto riempito con Poly(A) RNA e Proteinase K.

NOTA: Il materiale campione ottenuto dai tamponi secchi deve essere liquefatto prima dell'uso.

NOTA: L'attività della Proteinase K tende a diminuire dopo un'incubazione di più 10 minuti nel Lysis Buffer 1. Assicurarsi che tutti i campioni siano miscelati con Poly(A) RNA/ Proteinase K/ Lysis Buffer 1 entro questo lasso di tempo.

20. Una schermata informativa indica le posizioni del campione precedentemente selezionate. Assicurarsi che le posizioni dei campioni nella chemagic Deep Well 2 mL corrispondano alle posizioni selezionate.
21. Posizionare la chemagic Deep Well Plate 2 mL nella sua posizione predefinita sul tracking system e premere [continue].
22. Posizionare il Prepito Tip and Tube Rack nella sua posizione predefinita sul tracking system.
23. Verificare l'orientamento e l'adattamento precisi della chemagic Deep Well Plate 2 mL e del Prepito Tip and Tube Rack e bloccare entrambi chiudendo il fermo di sicurezza.
24. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start]. Viene avviato il processo di estrazione automatica del DNA/ RNA.

14.4 BREVE DESCRIZIONE/ GUIDA RAPIDA

Estrazione automatizzata di DNA/ RNA con lo strumento chemagic Prepito/D:

- Premere [Change protocol] e selezionare [Serum/Plasma] nella finestra "Select Protocol Group".
- Selezionare il protocollo del kit Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit premendo [Viral DNA/RNA300].
- Confermare premendo [OK] e inserire il codice di accesso a 4 cifre [2364] per l'autorizzazione e confermare premendo [Enter].
- Premere [Start process], selezionare le posizioni del campione e confermare premendo [OK].
- Inserire il codice a barre del kit con lo scanner di codici a barre e confermare premendo [OK].
- Per la registrazione dei campioni e delle provette di eluizione, premere [Yes] e seguire le istruzioni sul pannello touch screen per inserire i codici a barre corrispondenti.
- Caricare il Prepito Tip and Tube Rack e la piastra campioni come segue:

Materiale (posizione)	Fase del protocollo in dettaglio
Prepito Tip and Tube Rack posizione 1	Pipettare (50 - 100 μ L) di Elution Buffer 6 in ciascuna Prepito Tube M in uso, in base alla piastra di campionamento.
Prepito Tip and Tube Rack posizione 2	Pipettare accuratamente le Magnetic Beads risospese in ogni Prepito Tube M in uso secondo la piastra di campionamento.
Prepito Tip and Tube Rack posizione 3	Utilizzare i chemagic Tips S in base alla posizione dei campioni.
chemagic Deep Well Plate 2 mL (Piastra per campioni)	Posizionare la piastra con i campioni preparati (300 μ L di campione, 4 μ L di Poly(A) RNA, 10 μ L di Proteinase K e 300 μ L di Lysis Buffer 1) nello strumento.

- Posizionare la piastra del campione nello strumento.
- Posizionare il Prepito Tip and Tube Rack nello strumento.
- Verificare l'orientamento e l'adattamento precisi della chemagic Deep Well Plate 2 mL e del Prepito Tip and Tube Rack.
- Bloccare chiudendo il fermo di sicurezza.
- Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/ RNA premendo [Start]. Successivamente, il lisato del campione verrà miscelato automaticamente.

15. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Quando si utilizza questo kit di estrazione con il saggio EURORealTime SARS-CoV-2 RT-PCR (numero di catalogo: MP 2606-0125, MP 2606-0225, MP 2606-0425, MP 2606-0100, MP 2606-0200 e MP 2606-1000) sono stati riportati i seguenti dati sul limite di rilevamento (LoD), vedi sotto (dati generati da EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Seekamp 31, 23560 Lubecca).

15.1 LOD UTILIZZANDO LO STRUMENTO CHEMAGIC PREPITO PER L'ESTRAZIONE E I SISTEMI ROCHE LIGHTCYCLER 480 II, APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 FAST, BIO-RAD CFX TOUCH E ANALYTIK JENA QTOWER³ PCR

Un LoD provvisorio è stato determinato con 5-7 diluizioni seriali del virus ricombinante della SARS-CoV-2 (SeraCare, AccuPlex SARS-CoV-2 Reference Material; 5000 copie/mL) in una matrice di tampone orofaringeo negativo per la SARS-CoV-2. Ogni diluizione è stata testata con 3 repliche di estrazione individuali. La LoD provvisoria è stata determinata a 150 copie/mL (dati non mostrati).

Il LoD provvisorio è stato convalidato con 21 repliche di matrice negativa di tampone orofaringeo con materiale di riferimento AccuPlex, seguite da estrazione con il Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit. Le repliche sono state poi analizzate sul Roche LightCycler 480 II. La stessa procedura è stata ripetuta per l'Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR, il Bio-Rad CFX Touch e i ciclatori Analytik Jena qTOWER³. Il LoD è stato determinato in 150 copie/mL; i dati corrispondenti sono elencati nella Tabella 1.

Tabella 1: Conferma della LoD in campioni di tampone orofaringeo.

Strumento	Repliche valide	SARS-CoV-2		IC		Tasso di rilevamento dell'RNA del SARS-CoV-2
		n	Ct medio	n	Ct medio	
Roche LightCycler 480 II	21	21	36.18	21	29.30	100 %
Biosistema applicato 7500 veloce	21	21	35.14	21	29.02	100 %
Bio-Rad CFX 96 Touch	21	21	34.94	21	27.85	100 %
Analytik Jena qTOWER ³	21	21	34.66	21	28.38	100 %

16. PULIZIA E MANUTENZIONE

La pulizia e la manutenzione principale del sistema sono descritte in dettaglio nel Manuale d'uso chemagic Prepito/-D.

17. APPLICAZIONI A VALLE

Le seguenti applicazioni a valle sono state eseguite con successo e descritte in letteratura dopo l'isolamento con il Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit (CMG-2017).

Tabella 2: Applicazioni a valle pubblicate e recensite da esperti (RT-qPCR).

Materiale campione	Kit	Titolo	Riferimento
Tampone nasofaringeo in terreno di trasporto virale	Test per la PCR in tempo reale del Coronavirus COVID-19 genesig® (Genesig)	Clinical features of 47 patients infected with COVID-19 admitted to a Regional Reference Center	Olivares et al. Rev. med. Cile (2020), novembre 148, (11): 1577.1588. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33844763/
Tampone nasofaringeo in terreno di trasporto virale	Test per la PCR in tempo reale del Coronavirus COVID-19 genesig® (Genesig)	Clinical significance of viral loads in patients infected with SARS-CoV-2 in Fayoum University Hospitals	Hosam-Eldin et al. Egyptian Journal of Medical Microbiology (2022), Oct, 31 (4): 1-4 10.21608/EJMM.2022.262665
Plasma	Kit PCR RealStart HBV 1.0 (Altona)	Seroprevalence of HBV, HCV and HIV-1 and Correlation with Molecular Markers among Multi-Transfused Thalassemia Patients in Western India	Mishra et al. Mediterr J Hematol Infect Dis (2020), Juli, 12 (1):e2020038 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7340250/
Plasma	Kit RT-PCR HIV Real-Star 1.0 (Altona)	Seroprevalence of HBV, HCV and HIV-1 and Correlation with Molecular Markers among Multi-Transfused Thalassemia Patients in Western India	Mishra et al. Mediterr J Hematol Infect Dis (2020), Juli, 12 (1):e2020038 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7340250/
Tamponi nasali e orofaringei	Kit di rivelazione con PCR in tempo reale VIASURE SARS-CoV-2 (CerTest BIOTEC)	Faecal calprotectin in COVID-19 patients with intestinal symptoms	Ellakany et al. Gastroenterology Rev (2022), 17 (4): 332-337 https://doi.org/10.5114/pg.2022.114685

18. ALTRE DOMANDE

Per ulteriori applicazioni, domande tecniche o ulteriori informazioni su come sono stati generati i dati, si prega di contattare support.chemagen@revvity.com o +49 (0) 2401805500.

19. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

I seguenti dispositivi di raccolta **non sono consigliati** per l'uso con il Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit. Per ulteriori domande, contattare support.chemagen@revvity.com.

Tabella 3: Dispositivi di raccolta il cui uso è sconsigliato.

Descrizione	Marchio	Numero di riferimento
Provetta per il campionamento del virus inattivato (10 mL), contenente 3 mL di terreno di conservazione (inattivato), 1x tampone orofaringeo con materiale di rayon	Biocomma Limited	YMJ-TE
Sistema di raccolta e conservazione del virus inattivato	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co., Ltd.	KJ502-19C/D

Le caratteristiche di prestazione di questi prodotti non sono state stabilite.

Il kit IVD-2017 è stato convalidato per l'estrazione di DNA e RNA da plasma umano, saliva e tamponi nasali o orofaringei. Altri materiali di campionamento possono essere compatibili ma non sono stati convalidati.



20. GARANZIA

Qualsiasi cambiamento o modifica della procedura non raccomandata dal produttore può influire sui risultati, nel qual caso Revvity chemagen Technologie GmbH e le sue affiliate declinano tutte le garanzie espresse, implicite o di legge, compresa la garanzia implicita di commerciabilità e idoneità all'uso.

Revvity chemagen Technologie GmbH, le sue affiliate e i suoi distributori autorizzati, in tal caso, non saranno responsabili per danni indiretti o conseguenti.

Maggio 2024

www.revvity.com

revvity